

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA

E.A.P. DE OBSTETRICIA

**“EFECTO INHIBIDOR DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE *Cyperus rotundus* (PIRI-PIRI)
SOBRE LA CONTRACTIBILIDAD DE LA FIBRA
UTERINA IN VITRO EN RATAS”**

TESIS

Para optar el título profesional de Licenciada en Obstetricia

AUTOR

Huapaya Ticse, Joselyn Consuelo

Toro Roldán, Inés Andrea

ASESOR

Palomino Yamamoto, Manuel

Lima – Perú

2014

AGRADECIMIENTO

Queremos expresar nuestro agradecimiento a nuestros padres y hermanos quienes con su ayuda, apoyo y comprensión nos alentaron para lograr esta hermosa realidad.

Especialmente queremos agradecer a nuestra directora de escuela Dra. Zaida Zagaceta Guevara, asesor Dr. Manuel Palomino Yamamoto y co asesor Mg. Eduardo Villalobos Pacheco, quienes nos brindaron sus conocimientos, asesoramiento y apoyo incondicional durante el desarrollo de nuestra tesis. A las autoridades de la Escuela Académico Profesional de Obstetricia, por las facilidades brindadas para el trámite de aprobación y presentación del presente estudio. Al personal del bioterio y laboratorio de farmacología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, que nos apoyaron durante la ejecución de la fase experimental de la investigación.

Finalmente y no menos importantes a nuestros compañeros, Karen Campos y Carlos Oliva, quienes con sus conocimientos en investigación y estadística nos brindaron su apoyo y asesoría en la culminación de la tesis. Asimismo, agradecemos a todas aquellas personas que de alguna manera colaboraron e hicieron factible el presente estudio.

DEDICATORIA

Le dedicamos este trabajo de grado, principalmente a Dios, por la fortaleza brindada y haber iluminado el camino de nuestro desarrollo profesional.

A nuestros padres, por su comprensión, apoyo, confianza y por sus enseñanzas de perseverancia y optimismo para lograr nuestras metas propuestas, cada logro obtenido está inspirado en ellos.

A nuestros hermanos, que siempre nos apoyaron para culminar nuestros objetivos y fueron nuestra motivación para superar los obstáculos del camino.

De manera muy especial a Valeria, un angelito que está por nacer y representa la principal motivación y fuente de inspiración para seguir adelante con nuestros proyectos.

ÍNDICE

RESUMEN	5
ABSTRACT	6
INTRODUCCIÓN	7
MÉTODOS	20
TIPO DE ESTUDIO	20
DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.....	20
POBLACIÓN.....	20
MUESTRA.....	20
VARIABLES	21
TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN	21
PROCEDIMIENTO DEL ESTUDIO	23
ANÁLISIS DE DATOS	24
CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	25
RESULTADOS	26
DISCUSIONES	36
CONCLUSIONES	38
RECOMENDACIONES	39
BIBLIOGRAFÍA.....	40
ANEXOS	43

RESUMEN

Objetivo: Demostrar el efecto inhibidor del extracto etanólico de *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) sobre la contractibilidad de la fibra uterina in vitro en ratas albinas.

Método: Estudio de tipo experimental, diseño pre clínico. La muestra de estudio estuvo constituida por 15 ratas cepa Holtzman albinas con peso entre 250-300gr. Previo al experimento se estrogenizó a cada rata con cipionato de estradiol 0,1mg/kg IM. Luego, se extrajo en total 30 cuernos de útero de rata, los cuales se colocaron en el equipo de órgano aislado (Modelo LE 1-046) para el registro de los componentes de la contracción: intensidad, frecuencia y duración, obtenidas a través de la estimulación con oxitocina 0.01UI; posterior a ello, se administró secuencialmente las diferentes dosis del extracto etanólico de *Cyperus rotundus* (Piri-Piri): 0,5mg/ml, 1mg/ml, 10mg/ml, 50mg/ml, 100mg/ml y 200mg/ml, siendo el tiempo de estabilización entre cada dosis de 60 minutos con lavados de solución tyrode cada 10 minutos. Los datos obtenidos se analizaron en el programa Statistics SPSS versión 22.0, se utilizaron las pruebas de Wilcoxon para comparación de medianas de cada componente de la contracción, la prueba Kruskal-Wallis para comparación de medianas de los porcentajes de reducción y la prueba Post Hoc de Dunn para comparaciones múltiples entre las diferentes concentraciones.

Resultados: Para el primer componente de la contracción, se observó una disminución de la intensidad mediana a partir de la dosis 1mg/ml de *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) con un porcentaje de reducción de 1.6%, evidenciándose un mayor efecto a medida que las dosis aumentan logrando una disminución completa de la intensidad para las concentraciones 100mg/ml y 200mg/ml de *Cyperus rotundus* con un porcentaje de reducción de 85.3% y 98.2%, respectivamente; de igual forma se observó para el componente duración, observándose un efecto tocolítico a partir de la dosis 1mg/ml con porcentaje de reducción de 3.7%, siendo mayor a dosis más altas, así para la dosis 100mg/ml y 200mg/ml la disminución de la duración fue completa con porcentajes de reducción de 86,6% y 98,7%, respectivamente. Al analizar el componente frecuencia, se observó disminución de la frecuencia mediana desde la primera dosis (0,5mg/ml) con reducción de 12.1%, además se obtuvo una inhibición completa de la frecuencia a dosis de 100mg/ml y 200mg/ml con porcentajes de reducción de 92,2% y 98,7%, respectivamente. Tanto para el componente intensidad como duración, se evidenció diferencia significativa ($p < 0.05$) a partir de la dosis 10mg/ml del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri), mientras que para la frecuencia la diferencia significativa ($p < 0.05$) fue a partir de la dosis 0.5mg/ml. Al comparar los porcentajes de reducción de intensidad, duración y frecuencia, se constató que existe diferencia significativa entre las diferentes concentraciones para los porcentajes de reducción de cada componente ($p < 0.05$). Asimismo, al realizar comparaciones entre cada grupo de concentraciones de *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) según los tres componentes, se encontró que la dosis necesaria para obtener una reducción significativa fue 10mg/ml para intensidad, 50mg/ml para duración y frecuencia.

Conclusión: El extracto etanólico del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) presenta efecto inhibidor de manera dosis dependiente sobre la contractibilidad de la fibra uterina in vitro en ratas.

Palabras claves: Ratas Holtzman, útero, intensidad, frecuencia, duración.

ABSTRACT

Objective: To demonstrate the inhibitory effect of ethanol extract of *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) in contractility of uterine fiber in vitro in albino rats.

Method: Experimental, pre clinical study. The sample consisted of 15 Holtzman albino rats weighing between 250-300gr. Prior to the experiment each rat was estrogenized with estradiol cypionate 0.1mg/kg IM. Then, a total of 30 rat uterus horns was extracted, which were placed in isolated organ equipment (Model LE 1-046) for recording of components contraction: intensity, frequency and duration, obtained through oxytocin 0.01UI stimulation; after that, sequentially was administered different doses of the ethanol extract of *Cyperus rotundus* (Piri-Piri): 0.5 mg/ml, 1mg/ml, 10mg/ml, 50mg/ml, 100mg/ml and 200mg/ml, the stabilization time between doses was 60 minutes with washes of Tyrode solution every 10 minutes. The data obtained were analyzed in SPSS Statistics 22.0 software version, were used Wilcoxon test to compare medians of each component of the contraction, Kruskal-Wallis test to compare median ratios of reduction and Post Hoc Dunn test for multiple comparison between different concentrations.

Results: For the first component of contraction, was observed a decrease of medium intensity as from 1mg/ml dose of *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) with a reduction ratio of 1.6%, showing a greater effect as increasing doses achieving complete decrease of intensity for 100 mg/ml and 200mg/ml concentrations of *Cyperus rotundus* with a reduction percentage of 85.3% and 98.2%, respectively; similarly was observed for the duration component, tocolytic effect was observed from the 1 mg/ml dose with a reduction ratio of 3.7%, being greater at higher doses, for the dose 100 mg/ml and 200mg/ml decreased duration was completed with percentage reduction of 98.7% and 86.6%, respectively. Analyzing the frequency component, the medium frequency decrease was observed after the first dose (0.5mg/ml) with percentage reduction of 12.1%, also a complete inhibition was obtained with dose of 100mg/ml and 200mg/ml with reduction percentages of 92.2% and 98.7%, respectively. For both the intensity and duration component, significant difference ($p < 0.05$) was observed from the 10mg/ml dose of *Cyperus rotundus* (Piri-Piri), while for frequency significant difference ($p < 0.05$) was from dose of 0.5mg/ml. When comparing the percentage reduction in intensity, duration and frequency, it was found that there are significant differences between different concentrations for the reduction percentages of each component ($p < 0.05$). Also, when making comparisons between each set of concentrations of *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) according to the three components, it was found that the dose required to obtain a significant reduction was 10mg/ml for intensity, 50mg/ml for duration and frequency.

Conclusion: The ethanol extract of *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) has inhibitory effect dose dependent in fiber uterine contractility in vitro in rats.

Keywords: Holtzman rats, uterus, intensity, frequency, duration.

INTRODUCCIÓN

La amenaza de parto pretérmino constituye actualmente un problema de salud pública debido a la alta morbilidad neonatal que genera, representando un problema crítico en la salud mundial,⁽¹⁾ con un impacto de 70% para mortalidad neonatal y 25% para mortalidad infantil en recién nacidos prematuros de muy bajo peso,⁽²⁾ estadísticas que se incrementan cuando se trata de prematuridad extrema, dando cuenta de cerca del 50% de la morbilidad neurológica a largo plazo y cerca del 60% de la mortalidad perinatal.⁽³⁾

La Organización Mundial de la Salud reporta 12,9 millones de partos prematuros al año, lo que representa el 9,6% de todos los nacimientos a nivel mundial, aproximadamente 0,9 millones de ellos se concentran en países de América Latina y el Caribe, asociándose al 75% de la mortalidad perinatal.^(4,5) En el Perú, la incidencia de parto pretérmino reportada varía entre 3,6% - 11,8%, constituyendo causa importante de muerte y morbilidad neonatal.⁽⁵⁾ De acuerdo a estadísticas nacionales, el 80% de los nacimientos prematuros se acumulan principalmente en las regiones de la selva y sierra peruana;⁽⁷⁾ asimismo en diferentes hospitales de Lima se registra una prevalencia de parto pretérmino de 6%.⁽⁸⁾

A pesar del uso y aparición de nuevos agentes tocolíticos, la incidencia de parto prematuro no ha disminuido significativamente y sigue siendo un dilema terapéutico para los profesionales de salud, quienes buscan prolongar la vida intrauterina, optimizando las condiciones del feto para el nacimiento.^(9,10) Además, debido a la amplia gama de agentes tocolíticos para el manejo de la amenaza del parto prematuro es evidente el hecho que todavía no existe un fármaco estándar de primera línea; por lo que resulta importante seguir investigando nuevos agentes tocolíticos seguros y eficaces a base de fuentes vegetales, suscitando grandes esperanzas en la perspectiva de encontrar un agente tocolítico ideal.^(9,11)

El uso de la Medicina Tradicional como tratamiento alternativo de diversas patologías desempeña un papel importante en los países en desarrollo; la OMS estima que aproximadamente el 80% de la población acude a este tipo de medicina para satisfacer las necesidades primarias de salud.⁽¹²⁾ Muchas plantas medicinales nativas son conocidas y utilizadas por varios grupos indígenas; sin embargo, un gran porcentaje de

estas plantas siguen siendo investigadas para su uso potencial farmacológico por la medicina occidental; en muchos casos ni siquiera se conoce los tipos básicos de compuestos responsables de la actividad biológica reportada, tal es el caso del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri), utilizado por mujeres de la zona selvática como una medicina a base de hierbas para aliviar una serie de condiciones médicas, entre ellos problemas ginecológicos y obstétricos, tal es el caso de parteras tradicionales y curanderos nativos que utilizan plantas y hierbas pertenecientes a diferentes familias y especies, como el *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) para evitar un parto prematuro.^(9,13) Cabe resaltar que el uso de diversas plantas han sido parte integral de la práctica tradicional en el tratamiento de la amenaza del parto prematuro, de hecho varios de los tocolíticos clínicamente eficaces se han derivado de fuentes vegetales,⁽¹³⁾ motivo por el cual la medicina tradicional es considerada componente importante del sistema de salud.⁽⁹⁾

El *Cyperus Rotundus* (Piri-Piri) es una planta de nuestra Amazonía que pertenece a la familia de las Cyperaceas, la cual fue clasificada taxonómicamente en el Herbario de Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, según el sistema de clasificación de Cronquist (1988). (Anexo 1) Esta planta es llamada comúnmente Cípero, Cebollín, Castañuelas, Juncea, Totorilla, Negrillo, Tamascán; Purple nutsedge, Tiririca, Piri-piri.⁽¹⁴⁾ En nuestra amazonia es denominada Tiririca, Piri-piri, Castañuela, Coquito, Juncia. Asimismo en otros países se le conoce como Junca, Alho-Bravo, Capim-Alho, Capim-Dandá, Tiririca (Brasil) Xiang-fu (China), Kobushi (Japón), nutgrass (Estados Unidos) y Pasto bolita (Uruguay).⁽¹⁵⁾ Su distribución fitogeográfica es cosmopolita de regiones cálidas y tropicales, con una distribución limitada sólo por temperaturas frías en el suelo; los tubérculos se hielan y mueren por debajo de los 7°C. Florece en suelos húmedos durante los periodos de primavera hasta principios de otoño, fructificando hasta mediados de esta estación, produciendo inflorescencias en forma de umbela de hasta 10 cm de radio con espículas pardorrojizas.^(15, 16)

El Piri Piri es delgado de 15 a 45 cm de altura, provista de un bulbo basal, rizomas delgados pero fuertes con tubérculos pequeños de 1 centímetro de diámetro, redondeados u ovoides que engendran nuevas plantas.⁽¹⁷⁾ Los rizomas son inicialmente blancos y carnosos con hojas escamosas y luego se vuelven fibrosos, nervudo, y marrón oscuro con la edad.⁽¹⁸⁾ La reproducción principal del *C. rotundus* es vegetativa, a través

de semillas y por medio de los tubérculos de sus rizomas. Cada planta produce entre 60 y 120 tubérculos en cada ciclo, que darán origen a 25 a 40 nuevos brotes. La mayoría de los mismos se producen en los primeros 15 cm de profundidad. No todos los tubérculos brotan en primavera, sino que presentan dormancia.⁽¹⁶⁾

La composición química de los aceites volátiles de Piri-Piri ha sido ampliamente estudiado y se ha encontrado cuatro quimotipos de los aceites esenciales en diferentes partes de Asia:⁽¹⁹⁾ En el *tipo H*: α Cyperone (36,6%), β -selineno (18,5%), cyperol (7,4%) y cariofileno (6,2%). El *tipo M*: α -cyperone (30,7%), cypero tundone (19,4%), β -selineno (17,8%), cyperene (7,2%) y cyperol (5,6%). El *tipo O*: se caracterizó por cyperene (30,8%), cypero tundone (13,1%) y β -elemene (5,2%). Por último, el *tipo K*: cyperene (28,7%), cypero tundone (8,8%), acetato de patchoulenyl (8%) y acetato de sugeonyl (6,9%). El tamizaje fitoquímico preliminar de diferentes extractos de rizoma de *C. rotundus* reveló la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides, taninos, carbohidratos y furochromones, y muchos nuevos sesquiterpenoides, con ausencia de triterpenoides, anthroquinones y cumarinas en todos los extractos. Muchas de sus acciones biológicas se atribuyen a diversos sesquiterpenos llamados cyperones que también se encuentran en otras plantas de *Cyperus*. Los esteroides estaban presentes en extractos de éter de petróleo y n-hexano, azúcares reductores y los glucósidos estaban presentes en extractos de acetona, alcohólicos y acuosos; saponinas y taninos estaban presentes en extractos alcohólicos y acuosos.⁽¹⁸⁾

Diversos estudios mencionan que existe diferencias con respecto a los principales componentes de los aceites de *C. rotundus*, que sugiere además la existencia de más diversidad química dentro de las especies *C. rotundus*. Esta diferencia en la composición observada podría ser debido a las condiciones climáticas y ambientales, quimiotipos, el estado nutricional de las plantas, y otros factores que pueden influir en la composición del aceite esencial. La respuesta biológica deseada del *Cyperus rotundus* se debe no a un componente, sino una mezcla de componentes bioactivos y la proporción relativa de los componentes activos puede variar de planta a planta de la misma especie y también en diferentes partes de la planta.⁽¹⁹⁾

El *Cyperus rotundus* es una planta de usos múltiples, ampliamente utilizado en la medicina tradicional en todo el mundo para el tratamiento de diversas enfermedades. La

literatura contiene numerosas referencias al uso de las raíces de esta planta para los aceites esenciales. Testimonios de pobladores y algunos estudios indican que los extractos y compuestos aislados de *Cyperus rotundus* tienen múltiples propiedades medicinales.^(18, 19) Los tubérculos se utilizan para reducir las náuseas, estimular la digestión en el estómago, para problemas del hígado asociado a ictericia, malaria, dolores de cabeza y relajante muscular.^(14, 16, 18) El rizoma tuberoso es ligeramente perfumado y contiene aceite esencial, la fragancia se asemeja a limón y cardamomo. Sus tubérculos son utilizados como perfume para la ropa y como un medio para repeler insectos. Capaz de disolver varias veces el peso de lecitina y otras sustancias de aminoácidos asociados con la formación de cálculos. Tubérculos secos son utilizados para la difusión de las úlceras. Los rizomas son utilizados para trastornos estomacales e intestinales, tales como indigestión y estreñimiento. Se utiliza para curación de heridas, esguinces, contusiones y enfermedades de la piel. Es usado como galactogogo, es decir como estimulante en la producción de leche, aplicando en la mama en forma de pasta o yeso caliente. También es usado en neonatos para la correcta digestión. Usado en problemas urinarios y trastornos menstruales, se utiliza 3 a 9 gramos de sustancia secada en decocción.^(14, 15)

Respecto a la anatomía del útero de rata, se conoce que su sistema reproductivo está constituido por los ovarios, trompas uterinas, el útero y la vagina. En los roedores el útero posee una anatomía bicorné; es decir, formada por dos cuernos uterinos los cuales convergen hacia la región caudal formando el cuerpo uterino, el cual se continúa con el cuello uterino.⁽²⁰⁾ (Anexo 2) Está constituido histológica y funcionalmente por tres capas: *El endometrio* o mucosa está constituido por un epitelio cilíndrico simple que reviste el lumen del útero y por debajo de este epitelio se localiza una lámina propia de tejido conjuntivo. La lámina propia es muy celular y contiene las glándulas endometriales, que son glándulas tubulares simples ramificadas que se extienden hasta el miometrio. El endometrio se compone de 2 zonas que difieren tanto en la estructura como en la función, la capa superficial o zona funcional y la capa profunda o zona basal. La zona funcional degenera total o parcialmente durante el ciclo estral y se encuentra constituida por un epitelio de revestimiento de tipo simple cilíndrico y por una capa amplia de tejido conjuntivo vascularizado. Por otro lado, la zona basal es una capa delgada de tejido conjuntivo laxo vascularizado con menos células que la zona funcional que permanece persistente durante todo el ciclo. *El miometrio* se encuentra

constituido por 2 capas de músculo liso, una capa interna con células dispuestas de forma circular y una capa externa dispuesta longitudinalmente, y entre ambas capas musculares se sitúa una capa de tejido conjuntivo - vascular que contiene grandes arterias, vasos linfáticos y venas. *El perimetrio* está constituido por tejido conjuntivo laxo recubierto por la serosa peritoneal en el que podemos encontrar fibras musculares lisas, vasos sanguíneos, vasos linfáticos y fibras nerviosas.^(20, 21)

En todos los mamíferos, incluyendo a los humanos, el útero presenta una innervación autónoma, compuesta por nervios simpáticos y parasimpáticos. Estos nervios utilizan respectivamente, neurotransmisores como la noradrenalina y la acetilcolina, así como también varios neuropéptidos, tales como el péptido intestinal vasoactivo y el neuropéptido Y. Además, el útero presenta una innervación sensorial que utiliza neurotransmisores tales como, la sustancia P, la galanina y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina. En su conjunto estos neurotransmisores y neuropéptidos modulan la contractilidad del miometrio uterino, actúan como agentes reguladores de la vasoconstricción o vasodilatación y regulan la secreción glandular endometrial. De esta forma, los nervios uterinos contribuyen a distintas funciones reproductivas, tales como el transporte de los espermatozoides hacia el sitio de fecundación, la distribución de los blastocistos, la retención del feto durante su desarrollo; y están involucrados en la regulación de las contracciones que conducen al parto.⁽²²⁾

La fisiología de la contracción uterina humana, tiene como principal protagonista al músculo liso, se compone de células en forma de huso que poseen un núcleo central que asemeja la forma de la célula que lo contiene, carecen de estrías aunque muestran ligeramente estrías longitudinales. El estímulo para la contracción de los músculos lisos está mediado por el sistema nervioso vegetativo autónomo.⁽²³⁾ Las células son fusiformes, con un núcleo central y su largo también depende del órgano: son muy cortas en las arteriolas y largas (0,5mm) en el útero. Las células se encuentran en contacto unas con otras a través de estructuras llamadas nexos que los hacen funcionar como sincicio. La membrana celular tiene invaginaciones similares a los túbulos T, pero mucho menos desarrolladas. Del mismo modo, hay un retículo sarcoplásmico, pero pequeño. Aunque hay estructuras equivalentes a las líneas Z, éstas no se ordenan transversalmente y, claro, no dan el aspecto estriado del músculo esquelético y cardíaco.⁽²⁴⁾

El músculo uterino está compuesto por un grupo de fibras musculares continuas, interrumpidas por líneas Z, que están dispersas en una matriz extracelular compuesta principalmente por fibras de colágeno. Estas células miométriales se comunican unas con otras a través de conexiones llamadas uniones estrechas, que conducen el estímulo electrofisiológico para sincronizar la función contráctil, permite el flujo libre de iones calcio de una célula a otra, de forma que los potenciales de acción o los iones puedan viajar de una fibra muscular a la siguiente y hacer que las fibras se contraigan a la vez.^(25, 26)

La contracción y relajación del miometrio se produce por la interacción de las proteínas contráctiles: actina y miosina, que están reguladas por la fosforilación o desfosforilación de la cadena liviana de miosina.⁽²⁵⁾ El grado de relajación o contracción del tejido muscular depende de la concentración intracelular de calcio; sin ion calcio no hay interacción entre la actina y la miosina y por ende proceso contráctil. Las fuentes de calcio desde las cuales este catión puede ser liberado para aumentar la concentración de calcio libre son: los sitios de depósito intracelular o el líquido extracelular. El retículo sarcoplásmico, es la fuente primaria de calcio intracelular relacionado con el proceso contráctil. La membrana celular representa una barrera para la entrada de calcio; cuando la permeabilidad de la membrana aumenta se abren 2 tipos canales de calcio: uno dependiente de la disminución del potencial de la membrana; otro que es activado por la acción del agonista del receptor de membrana.⁽²⁷⁾

La fosforilación se produce, principalmente, por un aumento del calcio libre intracelular que, al unirse con la calmodulina, activa la enzima miosinaquinasa de cadena ligera (MQCL), la cual permite la incorporación de un fosfato a la cadena ligera de miosina. Esto genera cambios estructurales en la cabeza de la miosina que permiten su unión con la actina y favorece la contracción.^(26, 27) La relajación se produce cuando bajan los niveles de calcio intracelular, lo que lleva a una inactivación de la MQCL, con la consecuente desfosforilación de la cadena ligera de miosina por la enzima miosina fosfatasa.^(26, 28) Esta función miométrial puede ser regulada también por: neurohormonas hipofisiarias, agentes prostanoideos, catecolaminas, neuropéptidos, aminas biógenas y citoquinas, que interactúan con receptores intracelulares o con receptores de membrana, a través de segundos mensajeros, y producen aumento o disminución del calcio intracelular.⁽²⁵⁾

La acción hormonal también es importante para que la fibra muscular uterina adquiriera su capacidad de contraerse durante el parto. Los estrógenos son los responsables de la síntesis de miosina durante la gestación, también elevan el potencial de membrana haciendo la contracción más eficaz. Sin embargo, la progesterona, favorece la relajación uterina, inhiben la formación de los gap junctions, incrementa la formación de receptores beta-adrenérgicos, es decir bloquea la contracción. Por su parte la oxitocina fundamentalmente favorece el transporte de Ca en la membrana celular. La vida media de la oxitocina es muy corta de ahí la importancia de tener muchos receptores de oxitocina para poder rentabilizarla al máximo. Asimismo las prostaglandinas aumentan la permeabilidad de la membrana celular al calcio. Son las PGE y F2 α las que realmente tiene poder oxitócico.⁽²⁶⁾

Los componentes de la contracción uterina son: *Tono*: es la presión más baja que se registra entre contracciones durante el periodo de relajación uterina. *Intensidad*: la presión máxima que alcanza la contracción uterina, expresada en mm de Hg. La intensidad depende de la masa miometrial total y del número de células excitadas. *Frecuencia*: una expresión del intervalo entre contracciones, o sea, el periodo entre dos contracciones consecutivas. El intervalo entre contracciones se mide entre el punto máximo de dos contracciones uterinas. La frecuencia de las contracciones se expresa como el tiempo promedio de los intervalos medidos durante un periodo de tiempo. *Forma de la onda uterina*: Tiene la forma de una campana con una marcada pendiente de ascenso que lleva al punto más elevado de la curva y representa la potencia real de la contracción. Abarca cerca de un tercio de la duración total de la misma, mientras que la fase de relajación abarca los otros dos tercios de la curva y tiene una marcada pendiente de descenso, que se hace más horizontal durante la última fase del proceso de relajación. *Actividad uterina*: debido a los múltiples componentes de la contracción uterina, surgió la necesidad de cuantificar la actividad uterina en términos diferentes a los de intensidad, frecuencia y duración, para reflejar el conjunto y no por separado cada uno de sus componentes. La Unidad Montevideo, representa el producto de la intensidad promedio de las contracciones uterinas, multiplicado por el número de contracciones en 10 minutos. *Propagación*: la onda de contracción se origina en uno de los dos marcapasos situados en el cuerno uterino cerca de las trompas. Estos marcapasos no se han demostrado ni anatómicamente ni histológicamente, pero sí desde el punto de vista funcional. La onda normal tiene el denominado triple gradiente descendente de

propagación, duración e intensidad; o sea, que a medida que la onda desciende la propagación se hace más lenta y la duración e intensidad de las contracciones se hace menor.^(25, 27)

Los uterotónicos son fármacos que tienen la propiedad de generar o aumentar la contractibilidad uterina. A lo largo de la historia, los primeros fármacos que se utilizaron por sus propiedades uterotónicas fueron los alcaloides del cornezuelo de centeno, la oxitocina y las prostaglandinas.⁽²⁸⁾ La oxitocina es un uterotónico natural que se sintetiza en los núcleos supraóptico y paraventricular de la hipófisis posterior. Su mecanismo de acción es múltiple: acción directa sobre receptores uterinos, aumenta síntesis de prostaglandinas, impide el paso de calcio hacia el exterior celular e impide su fijación al sarcoplasma.⁽²⁹⁾ La oxitocina y sus derivados actúan a través de receptores específicos miométriales incrementando el ritmo y la intensidad de las contracciones, que suelen adoptar un patrón fisiológico de propagación desde el fondo hasta el cuello. Se absorbe vía oral, nasal y parenteral, siendo esta última la que permite una dosificación mejor y más controlada.⁽³⁰⁾ Su metabolización es hepática y renal. Los efectos adversos más frecuentes son la hipertonía y la rotura de útero y dentro de sus efectos secundarios más importantes son los cardiovasculares, que son mal tolerados en las pacientes con función ventricular anómala e hipovolémicas.^(29, 31)

En contraste, los fármacos tocolíticos disminuyen las contracciones uterinas y el tono muscular del miometrio mediante dos mecanismos: disminuyendo las concentraciones del calcio intracelular o incrementando los sistemas adenilciclase o guanilatociclase.⁽³²⁾ El tratamiento con tocolíticos ha sido un importante avance en la intención de controlar la amenaza de parto pretérmino y existe una gran variedad de agentes uteroinhibidores.⁽³³⁾ Los tocolíticos que cuentan con evidencias científicas que justifican su actividad inhibidora de las contracciones uterinas y su empleo son: *Los Análogos de la oxitocina*, que actúan bloqueando selectivamente los receptores de la oxitocina y de la vasopresina, siendo en este último de menor afinidad. En definitiva, no se produce la apertura de los canales del calcio, ni se libera el mismo del retículo endoplásmico y por tanto, se produce una disminución del calcio intracelular y de la contracción muscular, sin evidencia de trastornos cardíacos ni vasculares.⁽³²⁾ *Los Bloqueadores de los canales del calcio*, estos fármacos han demostrado que impiden la entrada de calcio extracelular a través de la membrana celular mediante la corriente de ingreso lento de calcio al

potencial de acción.⁽³³⁾ Su mecanismo de acción consiste en impedir el flujo de calcio al interior de la célula al provocar el cierre de los canales de calcio regulados por diferencias de potencial. La actividad miometrial guarda relación directa con el calcio libre citoplasmático y una reducción de su concentración inhibe la contracción miometrial.⁽³⁴⁾ *Los Inhibidores de la síntesis de prostaglandinas*, estos fármacos actúan inhibiendo la acción de las enzimas ciclooxygenasas I y II, responsables de la transformación del ácido araquidónico en prostaglandinas, que juegan un papel fundamental en el mecanismo del trabajo de parto.⁽³⁵⁾ *Betamiméticos*, causan una relajación del miometrio uniéndose con receptores adrenérgicos beta para reducir el calcio ionizado intracelular y prevenir la activación de proteínas contráctiles miometriales. A pesar de los grandes esfuerzos realizados en la búsqueda de actividad β_2 , todos los medicamentos conocidos presentan una cierta actividad β_1 .⁽³³⁾

La técnica de órganos aislados, se emplea en la búsqueda de receptores específicos que median la acción observada tras la administración de fármacos en el animal entero, así como su potencia relativa en comparación con otros agonistas o antagonistas, se comenzó a utilizar la técnica del órgano aislado como pieza ineludible en el estudio del mecanismo de acción de los fármacos. Los componentes del baño de órgano aislado se denominan al conjunto de materiales necesarios para realizar experiencias en órganos animales. En realidad, son varios elementos que constituyen un sistema que intenta reproducir las condiciones físico-químicas fisiológicas necesarias para que el órgano responda. a) Copa de Tejido: Es un vaso de cristal de volumen fijo (50 ml), en el que se dispone la pieza de tejido mediante un sistema de sujeción (varilla). Esta copa se llena de solución nutritiva y se sitúa inmersa en el “baño” propiamente dicho. Recibe una entrada para aireación y una conducción regulable para el medio de incubación; para cambiar esta solución se recurre a un rebosamiento de la copa y drenaje inferior o vaciado. Los fármacos se administran con una pipeta o una jeringa en el interior de la copa. El volumen de solución de fármaco añadido total no debe ser superior al 10% del volumen total de la copa. b) Aireación: Se realiza a través de conducciones adecuadas, regulables, a partir de aireadores (aire) o botellas de gas (oxígeno o carbógeno). Cuando el medio contiene NaHCO_3 como tampón, conviene utilizar carbógeno, ya que el oxígeno puro haría perder CO_2 y el pH se elevaría hasta valores mayores de 8, con el consiguiente deterioro de la actividad del órgano. c) Temperatura: El control de la temperatura se realiza mediante un “baño maría” con un termostato, en el cual se

encuentra introducida la copa de tejidos. La solución nutritiva se hace circular a través de un serpentín sumergido, antes de alcanzar la preparación. Se debe evitar administrar las disoluciones de fármaco aún frías. d) Solución Salina Fisiológica (SSF): aquella diseñada para mantener la viabilidad del órgano aislado. Diferentes preparados exigen distintas SSF de acuerdo a las características de cada uno. El principio que determina la composición de la SSF es la aproximación artificial a las condiciones fisiológicas del en que se encuentra dicho órgano o tejido cuando forma parte del organismo. Se deben, pues, tratar de respetar los siguientes parámetros: Composición electrolítica, osmolaridad, pH, presión parcial de O_2 y CO_2 , fuente de energía (metabólica), temperatura y tensión mecánica. Como fuente de energía se utiliza la dextrosa y más raramente otros sustratos como sucrosa o aminoácidos. En nuestro experimento usaremos la solución nutritiva llamada “Solución Tyrode para útero”, caracterizada por una concentración baja en calcio y cuya composición es la siguiente: NaCl (136.9), KCl (2.68), $NaHCO_3$ (11.9), $Mg\ Cl_2$ (1.1), $CaCl_2$ (0.3), NaH_2PO_4 (0.42) y glucosa (5.5). e) Sistema de registro: Está dotado de amplificador y registrador. Los cambios de tensión, es decir la contracción o relajación del músculo liso del preparado utilizado, deben ser adecuadamente amplificados a fin de obtener un registro que se pueda medir. El transductor isométrico permite la traducción de los cambios en la tensión mecánica originados por la contracción del músculo liso, en cambios de corriente eléctrica, que posteriormente serán aumentados por un amplificador al que va conectado. Este a su vez envía su señal a un registrador. La señal llega a un ordenador, que gracias al programa Pan Lab registra en la pantalla la actividad mecánica del músculo. También podría utilizarse un registro poligráfico, es decir, la señal eléctrica mueve unas agujas con unos rotuladores que dibujan en un papel la contracción del órgano. La utilización del órgano aislado como reactivo farmacológico aporta varias ventajas respecto con respecto a los preparados *in vivo* ya que posibilita la cuantificación precisa de la respuesta o efecto, el conocimiento exacto de la concentración del fármaco sin interferencias de procesos de acceso y disposición. Elimina las respuestas de carácter reflejo (neuronal) o retroalimentación humoral. Sin embargo también posee sus limitaciones ya que la técnica exige una gran minuciosidad y un correcto montaje del preparado. A pesar de intentar mantener las condiciones fisiológicas, debemos tener en cuenta que el órgano va a estar en un medio artificial. (Anexo 3)

La prematuridad constituye uno de los problemas clínicos más importantes y más severos de la obstetricia moderna en cuanto a la asistencia perinatal, ya que se asocia a altas tasas de mortalidad perinatal, morbilidad neonatal y discapacidad infantil,⁽³⁷⁾ con un riesgo global que varía según las semanas de gestación en la que se produzca el parto prematuro.⁽⁶⁾ Por tanto, en vista de las altas tasas de complicaciones inherentes a la prematuridad, la presente investigación representa el primer paso para continuar con la realización de investigaciones experimentales pre clínicas y así lograr que un futuro puedan realizarse estudios clínicos con la finalidad de determinar nuevas alternativas que permitan mejorar la eficiencia del tratamiento de la amenaza del parto prematuro, a través del empleo del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) y así resolver la gran problemática que genera el parto pretérmino y sus secuelas a corto y largo plazo en cuanto a mortalidad, discapacidad, costos económicos y emocionales.

Finalmente, los resultados que se obtendrán en esta investigación podrán ser utilizados como referencia para futuros estudios para así respaldar científicamente el empleo de nuestras plantas medicinales ya que es una carencia que limita el empleo de estos recursos, y haría un llamado para fomentar la investigación de nuestro gran patrimonio de plantas medicinales y su aplicación en la salud sexual y reproductiva.

- **Contracción uterina:** acortamiento de la fibra uterina al recibir un estímulo nervioso.
- **Duración:** el tiempo transcurrido desde que se inicia la contracción hasta que recupera el tono basal existente antes de su inicio.
- **Efecto tocolítico:** inhibición de las contracciones uterinas para detener la amenaza de parto prematuro.
- **Frecuencia:** número de contracciones producidas en un periodo de tiempo establecido.
- **Intensidad:** presión máxima que alcanza la contracción uterina, el cual depende de la masa miometrial y del número de células excitadas.
- **Rata Holtzman:** cepa de ratas albinas utilizadas ampliamente para fines experimentales debido a que son tranquilas y fáciles de manipular.
- **Útero:** órgano muscular del aparato reproductor genital femenino donde se aloja y desarrolla el feto durante la gestación.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto inhibidor del extracto etanólico de *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) sobre la contractibilidad de la fibra uterina in vitro en ratas albinas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar si el extracto etanólico de *Cyperus rotundus* revierte el efecto estimulante de la oxitocina sobre la fibra uterina in vitro de rata.
- Determinar el efecto del extracto etanólico del *Cyperus rotundus* sobre la intensidad de la contracción de la fibra uterina in vitro de rata.
- Determinar el efecto del extracto etanólico del *Cyperus rotundus* sobre la frecuencia de la contracción de la fibra uterina in vitro de rata.
- Determinar el efecto del extracto etanólico del *Cyperus rotundus* sobre la duración de la contracción de la fibra uterina in vitro de rata.
- Determinar la dosis mínima del extracto etanólico del *Cyperus rotundus* que revierte la contractibilidad de la fibra uterina in vitro de rata.

HIPÓTESIS

El extracto etanólico de *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) tiene efecto inhibidor sobre la contractibilidad de la fibra uterina in vitro en ratas albinas.

H₁: Existe efecto inhibidor del extracto etanólico de *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) sobre la contractibilidad de la fibra uterina in vitro en ratas albinas.

H₀: No existe efecto inhibidor del extracto etanólico de *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) sobre la contractibilidad de la fibra uterina in vitro en ratas albinas

MÉTODOS

TIPO DE ESTUDIO

Estudio experimental.

DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Pre clínico

POBLACIÓN

Estuvo conformado por ratas de la cepa Holtzman.

MUESTRA

La muestra motivo de estudio, estuvo conformado por 15 ratas cepa Holtzman albinas con peso entre 250-300gr, adquiridas en el Instituto Nacional de Salud (INS), quienes fueron albergadas a temperatura ambiental en la Unidad de Bioterio durante todo el periodo del estudio. Recibieron agua ad libitum; y pellets de alimento balanceado preparado por la Universidad Agraria La Molina.

- UNIDAD DE MUESTRA: útero aislado de rata.
- UNIDAD DE ANÁLISIS: cuerno de útero aislado de rata.

Por cada útero extraído se obtuvieron 2 cuernos de útero de rata, cada muestra fue colocada en el equipo de órgano aislado de 4 cubas (Modelo LE 01-046), obteniéndose un total de 30 muestras.

Criterios de inclusión

- Ratas hembras de cepa Holtzman.
- Ratas adultas (edad entre 3-6 meses).
- Ratas con variación de peso no mayor de 10gr.
- Ratas sin alteraciones físicas.
- Ratas estrogenizadas 24 horas antes.

Criterios de exclusión

- Ratas con parto previo.
- Ratas preñadas.
- Ratas en periodo de lactancia.
- Ratas con malformaciones.

VARIABLES:

Independiente:

- Extracto etanólico del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri)

Dependiente:

- Efecto inhibidor de la contractibilidad de la fibra uterina in vitro en rata.

Interviniente:

- Variación interindividual de las ratas Holtzman.
- Variación inter-ejecutor en la manipulación del útero in vitro.
- Factores ambientales: ruidos, iluminación, estrés, temperatura ambiental

TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN

1. MATERIALES:

Equipos de laboratorio:

- Equipo de órgano aislado (Modelo LE 1-046).
- Computador.
- Horno de desecación.
- Balanza analítica.
- Agitador magnético.
- Destilador de agua.
- Molino eléctrico de cuchillas.
- Jaulas metálicas.

Material biológico:

- Ratas albinas sepa Holtzman.
- Extracto etanólico de *Cyperus Rotundus* (Piri – Piri).

Material de laboratorio:

- Bandeja de vidrio.
- Papel filtro.
- Frasco de vidrio ámbar.
- Embudo de vidrio.
- Vaso precipitado.

- Espátula de acero.
- Probetas.
- Beakers.
- Pipetas.
- Placa petri.
- Jeringas descartables de 1ml.
- Aguja de 27g x ½
- Guantes descartables.
- Equipo de disección

Material farmacológico:

- Agua destilada.
- Alcohol etanólico.
- Solución de Oxitocina.
- Glucosa.
- Dimetilsulfoxido.
- Cloruro de sodio.
- Cloruro de potasio.
- Cloruro de magnesio.
- Fosfato de potasio.
- Cloruro de calcio.
- Bicarbonato de sodio.
- Cipionato de estradiol.

Recursos humanos:

- Investigadores (2)
- Asesor de investigación (2)
- Asesor estadístico (1)
- Personal técnico de laboratorio experimental del departamento de farmacología.

PROCEDIMIENTO DEL ESTUDIO:

Recolección y desecación del material botánico

Los rizomas del *Cyperus rotundus* fueron adquiridos por encomienda desde la ciudad de Iquitos, capital del departamento de Loreto. Una muestra de los rizomas se llevó al Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para su identificación y clasificación taxonómica.

Posteriormente, los rizomas recolectados se colocaron a una estufa con aire circulante a una temperatura de 40°C durante 72 horas para su secado respectivo. Se realizó la molienda por separado en un molino eléctrico de cuchillas. El producto seco y molido fue almacenado en frascos de vidrio ámbar para su posterior preparación.

Obtención del Extracto etanólico

Se realizó la extracción del desecado de rizoma del *Cyperus rotundus* mediante maceración del material molido con etanol y agua, en proporciones de 75:25. Cada litro de polución, fue mezclada con 250 g del fruto seco y molido, el cual se almacenó para maceración en un espacio oscuro a temperatura ambiental por 7 días. Luego, la solución fue filtrada en un embudo con papel filtro, la solución recolectada fue desecada en un horno a 40° por 72 horas para la obtención del extracto seco. El extracto se mantuvo en la refrigeradora sellado en un frasco evitando su exposición innecesaria a la luz solar para prevenir su degradación. Finalmente, se prepararon las concentraciones de 0.5mg/ml, 1mg/ml, 10mg/ml, 50mg/ml, 100mg/ml y 200mg/ml mediante disolución del extracto desecado y pesado con la solución de agua destilada y dimetil-sulfóxido, preparado previamente a proporciones iguales (“X” ml agua destilada + “X” ml de dimetil-sulfóxido).

Preparación de los animales

Los animales fueron alojados en jaulas metálicas de crianza para su aclimatación por 1 semana previa al experimento, con libre acceso a agua y alimento. La temperatura ambiental osciló entre 21-25°C y 50-60% de humedad con 12 horas luz/oscuridad. Un día antes al experimento (24 horas antes) se administró a cada rata ciproionato de estradiol 0,1mg/kg por vía intramuscular con la finalidad de que el útero sea más sensible a una estimulación farmacológica.

Útero IN VITRO sensibilizado con estrógenos.

Se realizó la técnica de dislocación cervical en las ratas para luego identificar y extraer el útero según el método general de Magnus, que consiste en un corte abdomino-pélvico medial poniendo al descubierto el útero, luego se disecaron los cuernos uterinos rápidamente y se colocaron en una placa Petri con 50 ml de solución de Tyrode. Dentro de la solución, se obtuvo dos segmentos uterinos de 1.5cm de longitud cada uno, luego se procedió a ligar los extremos de cada cuerno uterino con dos hilos que posteriormente se conectarán uno al extremo del soporte y el otro al transductor en el baño de órganos a 38° C bajo una tensión de 1 g con aireación constante de oxígeno.

Una vez instalado en el equipo de órgano aislado, se dejó estabilizar 30 minutos con lavados de 50 ml de solución tyrode cada 10 minutos.

Determinación del efecto inhibidor de la contracción del músculo uterino.

- Una vez acoplado la muestra en la cuba del equipo de órgano aislado, se dejó por estabilizar el tejido uterino hasta obtener contracciones propias del tejido sin estimulación farmacológica que evidencia vitalidad histológica.
- Se administró 100µL de oxitocina 0.01UI para provocar un patrón regular de contracciones uterinas por tres minutos.
- Luego se agregó 100µL de la primera dosis de Piri-Piri (0.5 mg/ml) para observar el efecto del extracto sobre el cuerno de útero durante tres minutos.
- Posteriormente se realizó 5 lavados con solución tyrode (10ml por cada lavado) para evitar la impregnación de las sustancias anteriormente utilizadas.
- Finalmente se dejó estabilizar la muestra por 60 minutos, realizando lavados con solución tyrode cada 10 minutos (10ml por cada lavado).
- Este procedimiento se realizó para cada dosis de Piri-Piri (0.5mg/ml, 1mg/ml, 10mg/ml, 50mg/ml, 100mg/ml y 200mg/ml) hasta finalizar el experimento.

ANÁLISIS DE DATOS:

Para la obtención de resultados se utilizó el software LABCHART PRO 8, el cual es el encargado de registrar las respuestas obtenidas, luego se realizó la exportación de datos en tablas de Excel 2010 por cada tipo de concentración. La información recogida se ingresó a una base de datos en el programa estadístico SPSS versión 22.0 para su análisis.

Para el análisis estadístico, se utilizó pruebas no paramétricas ya que las variables de estudio son cuantitativas que no cumplen los criterios de pertenencia a una distribución normal y/o por el tamaño de muestra pequeño (≤ 30 casos). Para el contraste de la diferencia de medianas de la intensidad, duración y frecuencia de la Oxitocina y el *Cyperus Rotundus* se utilizó la prueba de rangos con signo de Wilcoxon para muestras relacionadas. Para la comparación de medianas de los porcentajes de reducción entre las diferentes concentraciones o dosis de cada componente se utilizó la prueba Kruskal-Wallis, y luego para determinar cuáles son las concentraciones o dosis de cada componente que tienen diferencia significativa se utilizó la prueba de comparaciones múltiples de Dunn. Se consideró significativo un $p < 0.05$ para interpretación de las pruebas estadísticas utilizadas. Se utilizaron herramientas gráficas como gráfico de líneas.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

El presente trabajo de investigación fue evaluado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la UNMSM para la aprobación del uso de animales de experimentación, así como el modelo empleado en el proyecto. Por otro lado, se tomaron en cuenta las siguientes consideraciones éticas para la realización de experimentos en animales:

- Instrucción y capacitación del personal a realizar la experimentación, ya que los cuidados que rodean al animal y el estado de bienestar están ligados a la capacidad de respuesta de los animales en experimentación.
- Condiciones de alojamiento adecuadas como: la cantidad de animales por jaula, alimentación balanceada y control de factores ambientales, de manera de evitar el estrés en los animales.
- Buenas prácticas de sujeción, inyección y eutanasia evitando sufrimientos innecesarios.

RESULTADOS

A continuación los resultados del presente estudio sobre el Efecto inhibitor del extracto etanólico de *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) sobre la contractibilidad de la fibra uterina in vitro en ratas:

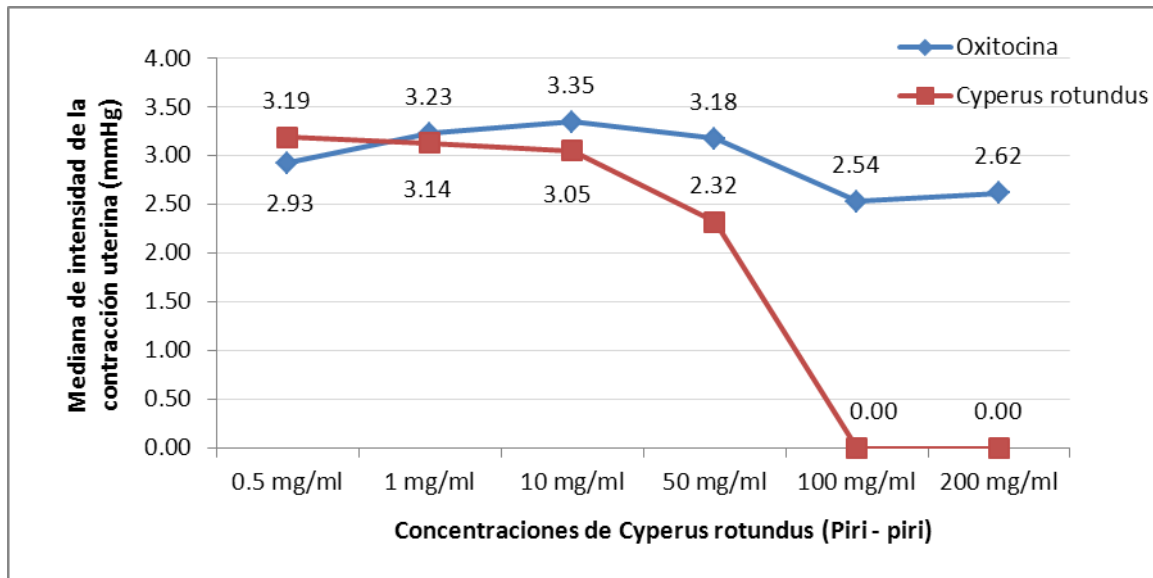
Tabla N° 1
Análisis comparativo de la mediana de la intensidad de la contracción uterina con Oxitocina y *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) según concentraciones

Concentraciones de <i>Cyperus rotundus</i> (Piri-Piri)	Mediana de la intensidad (gr)		p*
	Oxitocina (0.01UI)	<i>Cyperus rotundus</i>	
0.5mg/ml	2.93	3.19	0.002*
1mg/ml	3.23	3.14	0,634
10mg/ml	3.35	3.05	<0.001*
50mg/ml	3.18	2.32	<0.001*
100mg/ml	2.54	0.00	<0.001*
200mg/ml	2.62	0.00	<0.001*

* Prueba Rangos de Wilcoxon para muestras relacionadas, $p < 0.05$ es significativo

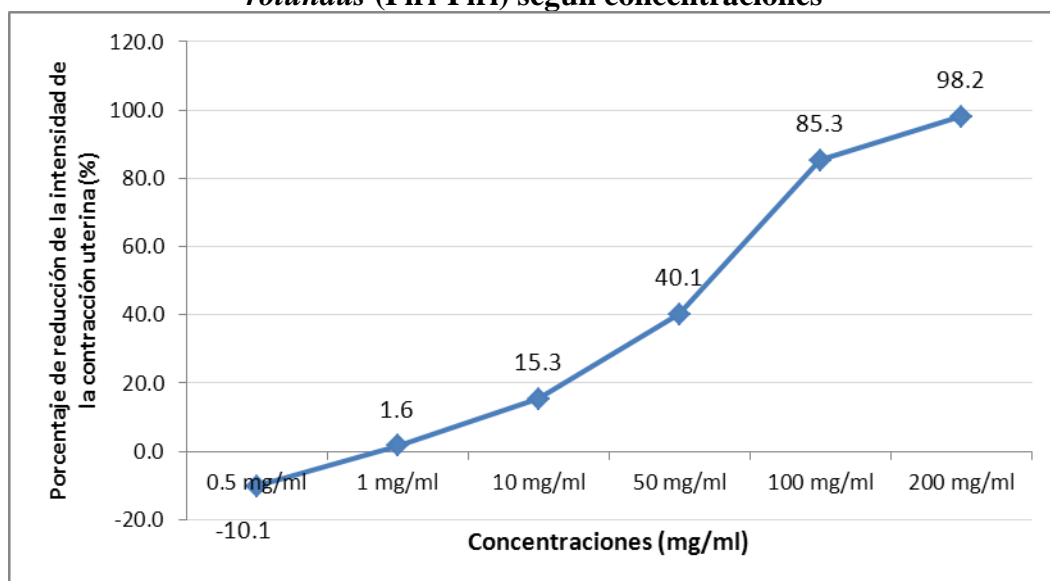
En la tabla se muestra la mediana de la intensidad para cada concentración de *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) luego de la estimulación con oxitocina a 0.01UI, observándose una disminución de la intensidad mediana a partir de la dosis 1mg/ml de *Cyperus rotundus*, variando de 3.23gr con oxitocina a 3.14gr al agregar el extracto de *Cyperus rotundus*; de igual forma se observa para las siguientes dosis obteniéndose cada vez diferencias mayores hasta que se logró una disminución completa de la mediana de la intensidad para las concentraciones 100mg/ml y 200mg/ml de *Cyperus rotundus*. Asimismo, se evidencia una diferencia significativa ($p < 0.05$) a partir de la dosis 10mg/ml del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri). (Ver Tabla N° 1 y Gráfico N° 1, 2).

Gráfico N° 1
Análisis comparativo de la mediana de la intensidad de la contracción uterina con Oxitocina y *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) según concentraciones



Se observa que a partir de la concentración 1mg/ml de *Cyperus rotundus* (Piri-Piri), la mediana de la intensidad de la contracción uterina empieza a disminuir con respecto a la estimulación provocada con oxitocina (0.01UI). La diferencia de la intensidad se maximiza entre las concentraciones de 100 mg/ml y 200 mg/ml del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri), causando un efecto inhibitor de las contracciones hasta generar indicadores nulos.

Gráfico N° 2
Porcentaje de reducción de la intensidad de la contracción uterina con *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) según concentraciones



El gráfico muestra el porcentaje de reducción de la intensidad de la contracción uterina generada a partir de la administración de *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) post oxitocina 0.01UI. Se observa un porcentaje de reducción positivo a partir de la dosis 1mg/ml de *Cyperus rotundus* con un valor de 1.6%, el cual aumenta hasta 98.2% cuando se empleó *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) a 200 mg/ml. Se evidencia que a medida que la concentración del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) aumenta, el porcentaje de reducción es mayor.

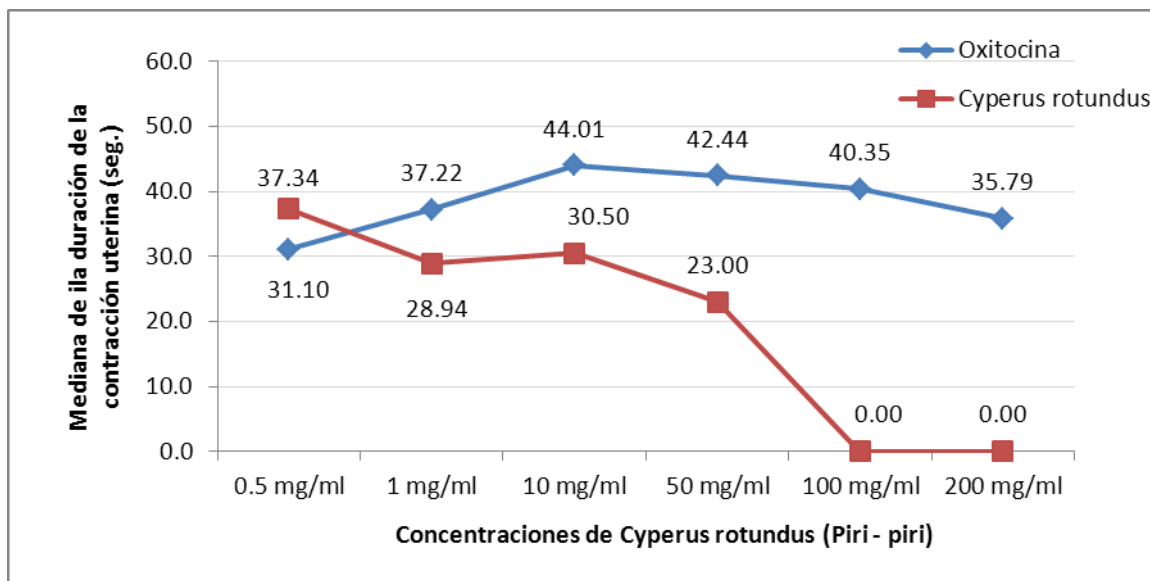
Tabla N° 2
Análisis comparativo de la mediana de la duración de la contracción uterina con Oxitocina y *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) según concentraciones

Concentraciones de <i>Cyperus rotundus</i> (Piri-Piri)	Mediana de la duración (seg.)		p*
	Oxitocina(0.01UI)	<i>Cyperus rotundus</i>	
0.5mg/ml	31.10	37.34	0.991
1mg/ml	37.22	28.94	0.339
10mg/ml	44.01	30.50	<0.001*
50mg/ml	42.44	23.00	<0.001*
100mg/ml	40.35	0.00	<0.001*
200mg/ml	35.79	0.00	<0.001*

* Prueba Rangos de Wilcoxon para muestras relacionadas, $p < 0.05$ es significativo

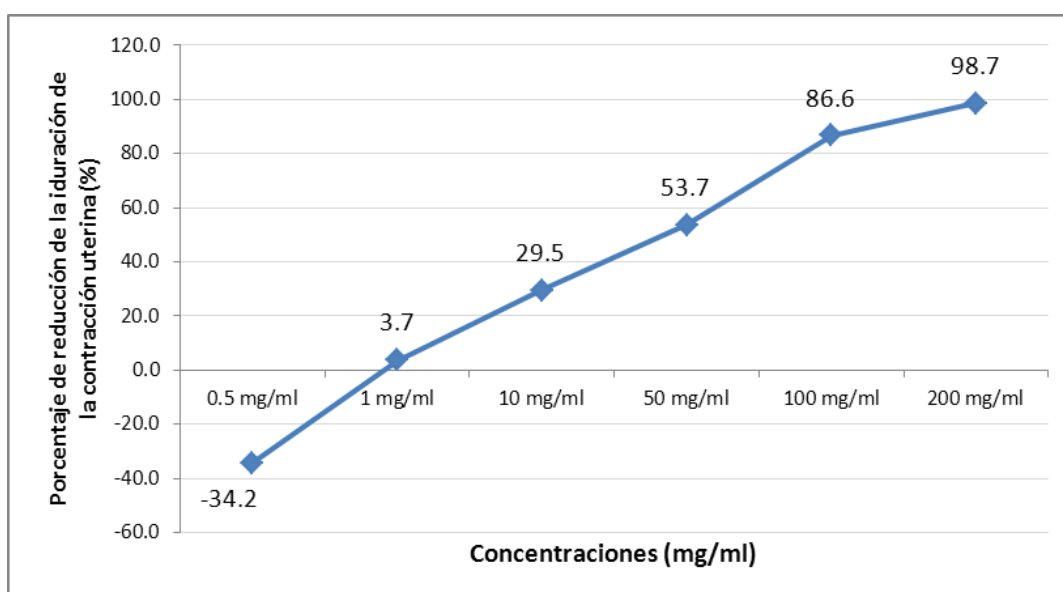
En la tabla se muestra la mediana de la duración para cada concentración de *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) luego de la estimulación con oxitocina a 0.01UI, observándose una disminución de la duración mediana a partir de la dosis 1mg/ml de *Cyperus rotundus*, variando de 37.22seg con oxitocina a 28.94seg al agregar el extracto de *Cyperus rotundus*; de igual forma se observa para las siguientes dosis obteniéndose cada vez diferencias mayores hasta que se logró una disminución completa de la mediana de la duración para las concentraciones 100mg/ml y 200mg/ml de *Cyperus rotundus*. Asimismo, se evidencia una diferencia significativa ($p < 0.05$) a partir de la dosis 10mg/ml del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri). (Ver Tabla N° 2 y Gráfico N° 3, 4).

Gráfico N° 3
Análisis comparativo de la mediana de la duración de la contracción uterina con Oxitocina y *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) según concentraciones



Se observa que a partir de la concentración 1mg/ml de *Cyperus rotundus* (Piri-Piri), la mediana de la duración de la contracción uterina empieza a disminuir con respecto a la estimulación provocada con oxitocina (0.01UI). La diferencia de la duración se maximiza entre las concentraciones de 100 mg/ml y 200 mg/ml del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri), causando un efecto inhibitor de las contracciones hasta generar indicadores nulos.

Gráfico N° 4
Porcentaje de reducción de la duración de la contracción uterina con *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) según concentraciones



El gráfico muestra el porcentaje de reducción de la duración de la contracción uterina generada a partir de la administración de *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) post oxitocina 0.01UI. Se observa un porcentaje de reducción positivo a partir de la dosis 1mg/ml de *Cyperus rotundus* con un valor de 3.7%, el cual aumenta hasta 98.7% cuando se empleó *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) a 200mg/ml. Se evidencia que a medida que la concentración del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) aumenta, el porcentaje de reducción es mayor.

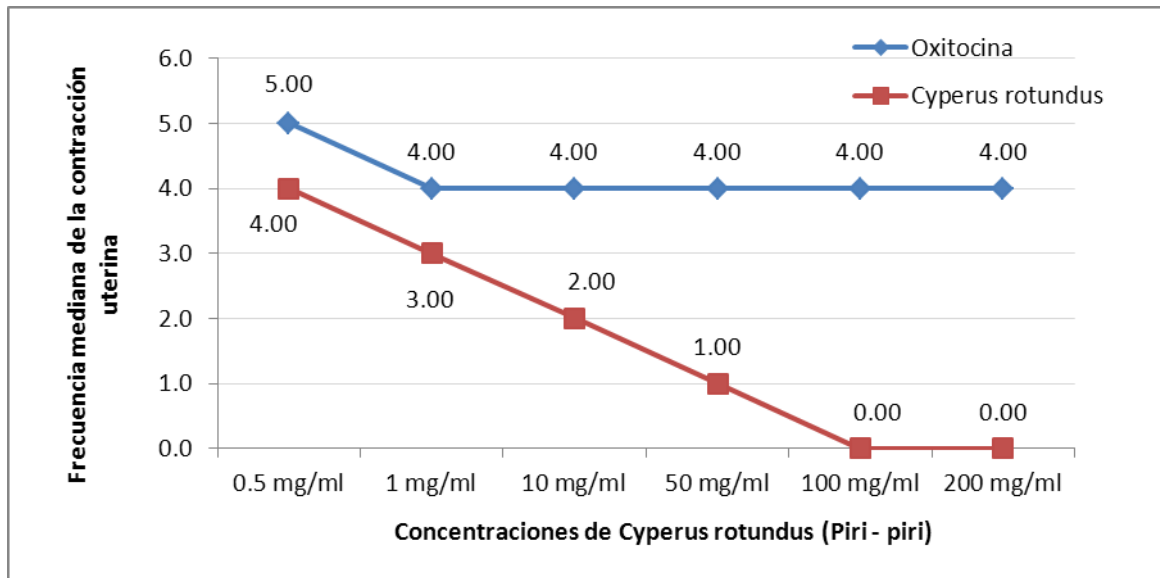
Tabla N° 3
Análisis comparativo de la mediana de la frecuencia de la contracción uterina con Oxitocina y *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) según concentraciones

Concentraciones de <i>Cyperus rotundus</i> (Piri-Piri)	Mediana de la frecuencia		p
	Oxitocina (0.01UI)	<i>Cyperus rotundus</i>	
0.5mg/ml	5.00	4.00	0.007*
1mg/ml	4.00	3.00	0.004*
10mg/ml	4.00	2.00	<0.001*
50mg/ml	4.00	1.00	<0.001*
100mg/ml	4.00	0.00	<0.001*
200mg/ml	4.00	0.00	<0.001*

* Prueba Rangos de Wilcoxon para muestras relacionadas, $p < 0.05$ es significativo

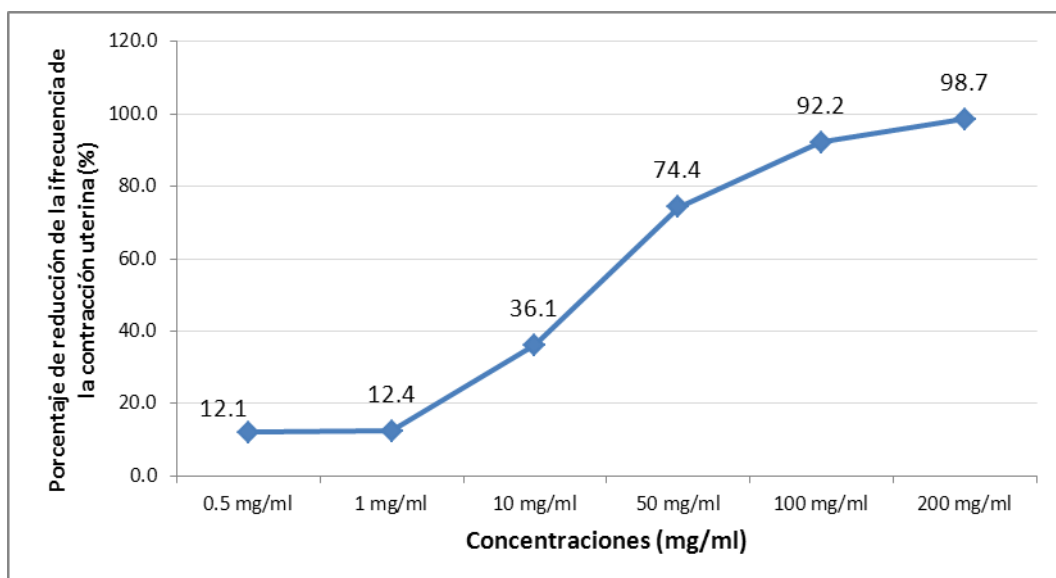
En la tabla se muestra la mediana de la frecuencia para cada concentración de *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) luego de la estimulación con oxitocina a 0.01UI, observándose una disminución de la frecuencia mediana a partir de la primera dosis de *Cyperus rotundus* (0.5mg/ml), variando de 5 contracciones con oxitocina a 4 contracciones al agregar el extracto de *Cyperus rotundus*; de igual forma se observa para las siguientes dosis obteniéndose cada vez diferencias mayores hasta que se logró una disminución completa de la mediana de la frecuencia para las concentraciones 100mg/ml y 200mg/ml de *Cyperus rotundus*. Asimismo, se evidencia que existe diferencia significativa ($p < 0.05$) para todas las concentraciones del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri). (Ver Tabla N° 3 y Gráfico N° 5, 6).

Gráfico N° 5
Análisis comparativo de la mediana de la frecuencia de la contracción uterina con Oxitocina y *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) según concentraciones



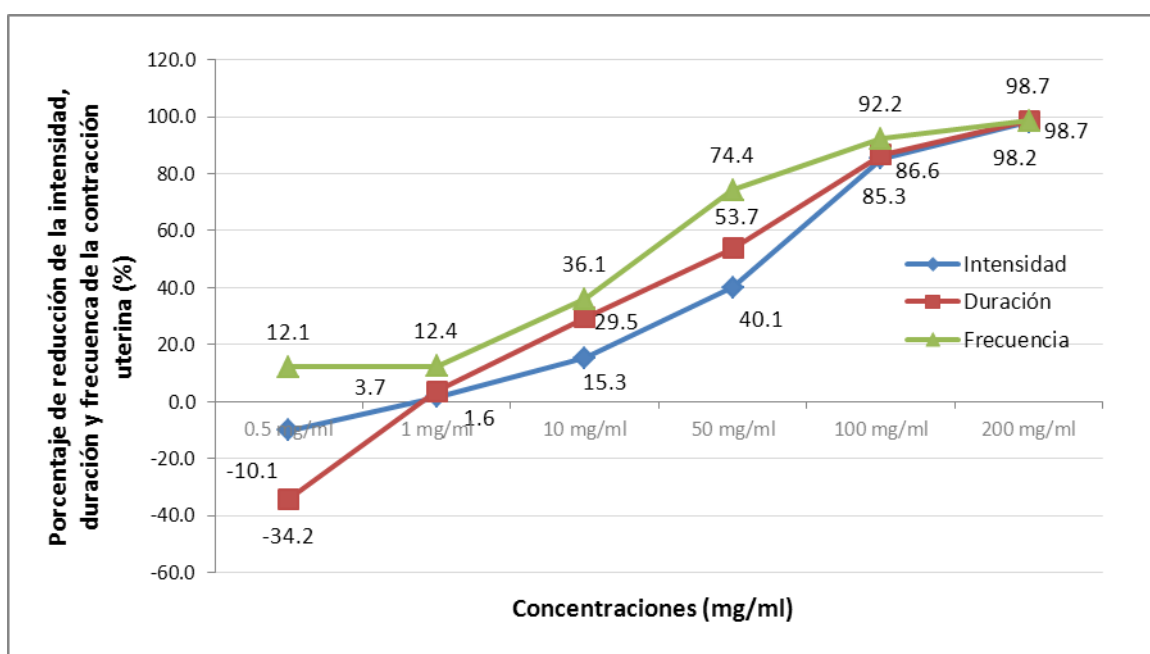
Se observa que a partir de la primera concentración de *Cyperus rotundus* (0.5 mg/ml) la mediana de la frecuencia de las contracciones uterinas disminuye en comparación con los valores al usar solo oxitocina (0.01UI). La diferencia de la frecuencia mediana se maximiza entre las concentraciones de 100 mg/ml y 200 mg/ml del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri), reduciendo totalmente el efecto uterotónico de la oxitocina hasta generar indicadores nulos.

Gráfico N° 6
Porcentaje de reducción de la frecuencia de la contracción uterina *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) según concentraciones



El gráfico nos muestra el porcentaje de reducción de la frecuencia de la contracción uterina al administrar *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) previa administración de oxitocina 0.01UI. Se observa que desde la primera concentración de *Cyperus rotundus* (0.5mg/ml) se genera una disminución de la frecuencia mostrando un porcentaje de reducción del 12.1% el cual aumenta hasta 98.7% cuando se empleó *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) a 200 mg/ml. Se evidencia que a medida que aumenta la concentración del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) el porcentaje de reducción es mayor.

Gráfico N° 7
Porcentaje de reducción de la intensidad, duración y frecuencia de la contracción uterina con *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) según concentraciones



El gráfico muestra el porcentaje de reducción de los tres parámetros de la contracción uterina (intensidad, duración y frecuencia) a partir de la administración de las diferentes concentraciones de *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) previa administración de oxitocina 0.01UI. Se puede apreciar el efecto tocolítico a partir de la concentración de *Cyperus rotundus* a 10mg/ml, siendo el componente frecuencia el que mostró tal efecto desde la primera dosis (0,5mg/ml). Se observa que al aumentar las concentraciones de *Cyperus rotundus* (Piri-Piri), el porcentaje de reducción fue mayor, alcanzando un máximo en la concentración de 200 mg/ml, donde los tres parámetros muestran un porcentaje de reducción similar.

Tabla N° 4
Comparación de los porcentajes de reducción de la intensidad, duración y frecuencia de la contracción uterina con *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) según concentraciones

	Porcentaje de reducción		
	Chi cuadrado	gl	p
Intensidad	128.394	5	<0.001*
Duración	114.966	5	<0.001*
Frecuencia	86.558	5	<0.001*

(*) Prueba Kruskal – Wallis: $p < 0.05$ es significativo

Al comparar las medianas del porcentaje de reducción de intensidad, duración y frecuencia de las contracciones se constató que existe diferencia significativa entre las diferentes concentraciones para los porcentajes de reducción de cada componente ($p < 0.05$). Luego, para comprobar cuáles son las concentraciones que presentan diferencias se realizó la Prueba de Comparación Múltiple de Dunn. (Ver Tabla N° 4)

Tabla N° 5
Comparación de los porcentajes de reducción de la intensidad de la contracción uterina según concentraciones de *Cyperus rotundus* (Piri-Piri)

	Comparaciones múltiples - Componente intensidad					
	0.5 mg/ml	1 mg/ml	10 mg/ml	50 mg/ml	100 mg/ml	200 mg/ml
0.5 mg/ml	0					
1 mg/ml	18.083	0				
10 mg/ml	43.883*	25.800	0			
50 mg/ml	66.93*	48.85*	23.050	0		
100 mg/ml	107.3*	89.25*	63.45*	40.4*	0	
200 mg/ml	117.17*	99.083*	73.283*	50.23*	9.833	0

(*) Prueba Dunn: $p < 0.05$ es significativo o si la diferencia real > diferencia crítica: 38.7131

Al realizar las comparaciones múltiples entre los grupos de concentraciones de *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) para los porcentajes de reducción de la intensidad de la contracción uterina se encontró que 10 mg/ml del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) es la dosis mínima necesaria para obtener una reducción significativa de la intensidad, lo cual incrementa a mayores concentraciones del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri). No se observa diferencia significativa cuando se comparan concentraciones altas como 100mg/ml y 200mg/ml debido a que estas concentraciones generaron un alto porcentaje de reducción de la intensidad. (Ver Tabla N° 5)

Tabla N° 6
Comparación de los porcentajes de reducción de la duración de la contracción uterina según concentraciones de *Cyperus rotundus* (Piri-Piri)

Comparaciones múltiples - Componente duración						
	0.5 mg/ml	1 mg/ml	10 mg/ml	50 mg/ml	100 mg/ml	200 mg/ml
0.5 mg/ml	0					
1 mg/ml	13.233	0				
10 mg/ml	36.900	23.667	0			
50 mg/ml	60.27*	47.03*	23.367	0		
100 mg/ml	97.8*	84.57*	60.9*	37.533	0	
200 mg/ml	110*	96.77*	73.1*	49.73*	12.200	0

(*) Prueba Dunn: $p < 0.05$ es significativo o si la diferencia real > diferencia crítica: 38.6334

Se observa que al realizar las comparaciones múltiples entre los grupos de concentraciones de *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) para los porcentajes de reducción de la duración de la contracción uterina se encontró que 50 mg/ml del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) es la dosis mínima necesaria para obtener una reducción significativa de la duración, lo cual incrementa a mayores concentraciones del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri). No se observa diferencia significativa cuando se comparan concentraciones altas como 100mg/ml y 200mg/ml debido a que estas concentraciones generaron un alto porcentaje de reducción de la duración. (Ver Tabla N° 6)

Tabla N° 7
Comparación de los porcentajes de reducción de la frecuencia de la contracción uterina según concentraciones de *Cyperus rotundus* (Piri-Piri)

Comparaciones múltiples - Componente frecuencia						
	0.5 mg/ml	1 mg/ml	10 mg/ml	50 mg/ml	100 mg/ml	200 mg/ml
0.5 mg/ml	0					
1 mg/ml	6.083	0				
10 mg/ml	27.933	21.850	0			
50 mg/ml	61.47*	55.383*	33.533	0		
100 mg/ml	84.2*	78.117*	56.27*	22.733	0	
200 mg/ml	87.117*	81.03*	59.183*	25.650	2.917	0

(*) Prueba Dunn: $p < 0.05$ es significativo o si la diferencia real > diferencia crítica: 38.4086

En relación a las comparaciones múltiples entre los grupos de concentraciones de *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) para los porcentajes de reducción de la frecuencia de la contracción uterina se encontró que 50 mg/ml del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) es la

dosis mínima necesaria para obtener una reducción significativa de la frecuencia, lo cual incrementa a mayores concentraciones del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri). No se observa diferencia significativa cuando se comparan concentraciones altas como 50 mg/ml, 100mg/ml y 200mg/ml debido a que estas concentraciones generaron un alto porcentaje de reducción de la intensidad. (Ver Tabla N° 7)

DISCUSIÓN

Respecto al efecto inhibidor del extracto etanólico de *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) sobre la contractibilidad de la fibra uterina in vitro en ratas cepa Holtzman albinas, se obtuvo 30 muestras de tejido uterino, donde se evaluó el efecto del *Cyperus rotundus* sobre la intensidad de la contracción uterina inducido por 1µL de oxitocina (0.01 UI), fue posible observar una disminución de esta a partir de la dosis 1mg/ml de *Cyperus rotundus* logrando una reducción cada vez mayor al incrementar las dosis del extracto etanólico; sin embargo, se obtuvo una reducción estadísticamente significativa a partir de la dosis 10mg/ml ($p<0,05$). Además al usar la dosis mayor (200mg/ml) del extracto etanólico del *Cyperus rotundus*, se obtuvo un porcentaje de reducción de la intensidad casi completa, siendo el 98,2% en comparación a la dosis de 1mg/ml con el que se obtuvo una reducción solo de 1,6%. Por otro lado, se observó la misma tendencia al evaluarse la acción del extracto etanólico sobre la duración de la contracción, demostrando una disminución de este parámetro a partir de la dosis 1mg/ml de *Cyperus rotundus* aumentando el porcentaje de reducción a medida que la dosis son mayores, logrando un porcentaje de 98,7% con la dosis máxima (200mg/ml); sin embargo al realizar el análisis estadístico se encuentra una diferencia significativa a partir de la dosis 10mg/ml ($p<0,05$), resultado similar al encontrado para el componente intensidad de la contracción. El tercer componente a evaluarse fue la frecuencia de la contracción que a diferencia de los anteriores, evidencia una respuesta tocolítica con la dosis mínima 0,5mg/ml encontrándose incluso una diferencia estadísticamente significativa ($p<0,05$) a partir de esta concentración; asimismo se obtuvo un porcentaje de reducción de 12,1% y de 98,7% para las dosis mínima y máxima usadas, respectivamente.

La concentración mínima de *Cyperus rotundus* para generar un porcentaje de reducción positivo de los tres parámetros de la contracción uterina de manera simultánea fue 1mg/ml. Además al aumentar las concentraciones de *Cyperus rotundus* (Piri-Piri), el porcentaje de reducción también aumenta gradualmente. El análisis para los tres componentes demuestra el efecto relajante sobre la contractura uterina de manera dosis dependiente, obteniéndose una inhibición casi completa de la contracción con la dosis de 200mg/ml. Asimismo al comparar los porcentajes de reducción de intensidad, duración y frecuencia de las contracciones se constató que existe diferencia significativa entre las diferentes concentraciones para los porcentajes de reducción de cada

componente ($p < 0.05$). La comparación múltiple de las concentraciones de *Cyperus rotundus* para analizar los porcentajes de reducción de la intensidad, duración y frecuencia nos indica que la dosis mínima necesaria para tener una reducción significativa de cada parámetro es 10 mg/ml, 50 mg/ml y 50 mg/ml, respectivamente.

Si bien es cierto que son escasas las investigaciones respecto al efecto del *Cyperus rotundus* en el músculo liso uterino, su acción tocolítica se encuentra documentado por el uso empírico de la población nativa de la amazonia peruana usado como relajante muscular y en el tratamiento de dismenorrea; asimismo de acuerdo a la literatura se reporta que muchas de las acciones biológicas se atribuyen a la presencia de ciperonas, sesquiterpeno que se halla en otras plantas medicinales para beneficios de la actividad cardíaca; no obstante otros investigadores refieren que la respuesta biológica no se debe a un solo componente, sino a una mezcla de componentes bioactivos, por tanto es evidente que aún no es conocido el principio activo ni mecanismo de acción del *Cyperus rotundus*. Asimismo, cabe resaltar que durante la fase experimental, se observó que a medida que se aumentaba la dosis del extracto etanólico resultaba cada vez más difícil lograr estimulación del útero con oxitocina requiriéndose mayor frecuencia de lavado de la muestra uterina así como un mayor tiempo de estabilización; ante ello se infiere que probablemente ocurrió impregnación del *Cyperus rotundus* sobre los receptores de oxitocina de la musculatura uterina, lo que en farmacodinamia se conoce como antagonismo competitivo en la que un antagonista compite con el agonista por los sitios de unión del receptor que al ocuparlo no activa dichos receptores; sin embargo, para confirmar el mecanismo de acción mencionado anteriormente se requiere de estudios más específicos y de un tamaño muestral más grande, pues existen otros factores que podrían influir en la respuesta uterina como por ejemplo, agotamiento uterino.

Por último, los resultados obtenidos proporcionan evidencia científica que respalde el efecto tocolítico tradicional del *Cyperus Rotundus*, el cual debe seguir estudiándose en próximas investigaciones de manera que en un futuro sirva como alternativa en el tratamiento del parto prematuro, requiriéndose definir la estabilidad y bioactividad de este remedio tradicional en base al aislamiento y caracterización de sus componentes activos.

CONCLUSIONES

- El extracto etanólico del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) presenta efecto inhibidor sobre la contractibilidad de la fibra uterina in vitro en ratas.
- El extracto etanólico del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) revertió el efecto estimulante de la oxitocina sobre la fibra uterina in vitro de rata.
- La administración del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) mostró un efecto inhibidor en el componente intensidad de la contracción de la fibra uterina in vitro de rata.
- La administración del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) mostró un efecto inhibidor en el componente duración de la contracción de la fibra uterina in vitro de rata.
- La administración del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) mostró un efecto inhibidor en el componente frecuencia de la contracción de la fibra uterina in vitro de rata.
- La dosis mínima del extracto etanólico del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) que revirtió la contractibilidad de la fibra uterina in vitro de rata en al menos un componente de la contracción fue de 0,5mg/ml, mientras que la dosis mínima que mostró efecto tocolítico para los tres componentes (intensidad, duración y frecuencia) fue de 10mg/ml.

RECOMENDACIONES

- Promover el desarrollo de próximas investigaciones experimentales con un mayor número de muestras.
- Se sugiere realizar estudios enfocados a determinar el mecanismo de acción y principio activo del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) con la finalidad de seguir respaldando científicamente el efecto tocolítico demostrado.
- Realizar estudios en el que *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) revierta el efecto estimulante de otros fármacos oxitócicos.
- Realizar investigaciones que comparen el efecto inhibidor de la contracción uterina del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri) con otros fármacos tocolíticos.
- Realizar estudios que determinen una dosis máxima del *Cyperus rotundus* (Piri-Piri).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Presenza Peña G. Efecto del clenbuterol como terapia tocolítica en el manejo de la amenaza de parto pretérmino. Hospital Central Universitario “Dr. Antonio María Pineda”. 2001.
2. Hübner G, Ramírez F. Sobrevida, viabilidad y pronóstico del prematuro. Rev. méd. Chile. 2002; 130 (8): 931-938.
3. Pachecho J. Parto pretérmino: tratamiento y las evidencias. Rev Per GinecolObstet. 2008; 54:24-32.
4. Rosell E, Casado A, Monzón L. Importancia cuantificada de los síntomas sutiles de amenaza de parto pretérmino. Rev Cubana Med Gen Integr. 2000; 16(3): 275-279.
5. Beck S, Wojdyla D, Say L, Betran AP, Merialdi M, Harris J, et al. The worldwide incidence of preterm birth: a systematic review of maternal mortality and morbidity. Bull 31 World Health Organ 2010; 88:31–38.
6. Parra V. Factores de riesgo asociados a parto pretérmino en el Hospital Hipólito Unanue de Tacna durante el período enero 2010-diciembre 2012.
7. Atención de la Salud Sexual y Reproductiva en los servicios de Salud 2005-2008. Oficina General de Estadística e Informática – Ministerio de Salud. 2010.
8. Díaz L. Factores de riesgos asociados al parto pre término en el hospital nacional Guillermo Almenara Irigoyen de enero a junio del 2010. Rev. ECIPERU. 2011; 8(2):1-7.
9. Nwafor S, Akah P, Okoli C, Ndu O, Ichu E. Uterine relaxant property of the ethanolic root extract of *Cissampelos mucronata*. Journal of Natural Remedies. 2002; 2 (1): 59 – 65.
10. Parra C. Nitroglicerina transdermica o ketorolac sublingual como tocolíticos en la amenaza de parto pretérmino. MARACAIBO, 2012.
11. Saleem N, Ferro V, Simpson A, Igoli J, Gray A, Drummond R. The Inhibitory Effect of *Haloxylon salicornicum* on Contraction of the Mouse Uterus. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2013: 1-10.
12. Prieto S, Garrido G, González J, Molina J. Actualidad de la Medicina Tradicional Herbolaria. Revista CENIC Ciencias Biológicas. 2004; 35 (1): 1-18.
13. Jaybhaye D, Varma S, Bonde V, Gite A. Effect of *Tectona Grandis* stem extract on estradiol benzoate injected uterus of female albino wistar rats. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. 2010; 3(2): 123-125.

14. Cyperus Rotundus. 2010. Jagannath & Sons.
<http://www.jagannathandsons.in/cyperus-rotundus.htm>
15. Mutha/Cyperus rotundus. Stuart change. ORG. 2013
<http://www.stuartxchange.com/Mutha.html>.
16. Osuna D. Proyecto “Control de *Cyperus rotundus* en el cultivo del tabaco”. Centro de Investigación Agraria Finca La Orden-Valdesequera.
17. Plantas vasculares: *Cyperusrotundus*. Base de datos de invasiones biológicas para Uruguay. 2011.
18. Ranjani S. Jeyadevan P. Physico-chemical and phyto-chemical study of rhizome of *Cyperusrotundus* LINN. , 2012; 1(2): 1-5.
19. Oladipupo A. Adebola O. Chemical Composition of the Essential Oils of *Cyperusrotundus* L. from South Africa. *Molecule*. 2009, 14: 2909-2917.
20. Bosquiaz V. Regulación Endocrina y Efectos de Estrógenos Ambientales sobre el Compartimiento Vascular en el Tracto Genital: su Importancia Relacionada con la Eficiencia Reproductiva. Universidad Nacional del Litoral. Argentina. 2007.
21. Linares N, Millán Y, Garrido-Gracia J, Aguilar R, Gordon A, Sánchez J et al. Utilidad de los agonistas, moduladores selectivos y antagonistas puros del receptor de estrógenos en estudios morfofuncionales del útero de la rata. *Anales. Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental*. 2010; 23(1): 97-109.
22. Papka R, Taurig H. (1993) Autonomic efferent and visceral sensory innervation of the female reproductive system: special reference to neurochemical markers in nerves and ganglionic connections. In: *Nervous Control of the Urogenital System*. (ed. Maggi CA.), pp. 423-436, Harwood Academic Publishers, Switzerland.
23. Sifuentes D. Propiedades fisiológicas del músculo uterino. 2009.
<http://es.scribd.com/doc/16729036/musculo-liso>.
24. Manual de fisiología y biofísica para estudiante de medicina. Cap.12 – Parte 4. El músculo, un tejido excitable muy especial p.38-53.
25. Aller J. Pagés G. Contracción uterina y Abdominal. Cap. 9: 118:125.
26. Rodríguez A. Fisiología de la contracción uterina. 2013
http://prezi.com/m4t5jr1_w3qv/fisiologia-de-la-contraccion-uterina/
27. Torales. Capítulo 18: Bloqueantes de los canales de calcio. Pág.: 76-81.
28. C. den Hertog, A. de Groot, P. Van Dongen Historia y uso de los oxitócicos. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* (Ed. Española) 2001; 1: 315-319.

29. Grotegut C, Paglia M. Oxytocin exposure during labour among women with postpartum hemorrhage secondary to uterine atony. *Am J Obstet Gynecol.* 2011; 204: 56.
30. Soltani H, Hutchon D, Pulose T. Timing of prophylactic uterotonics for the third stage of labour after vaginal birth. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010; (8):CD006173.
31. Hijona J, Carballo A, Donado C, Castilla M, Torres J. Uso de carbetocina en el manejo activo de la tercera fase del parto de pacientes con parto vaginal y alto riesgo hemorrágico. *Revista Decana De La Especialidad Toko-Ginecología,* 2013; VI 72 (1): 6 – 12.
32. Sociedad Española De Ginecología Y Obstetricia. Protocolos Asistenciales En Obstetricia. Fármacos Uteroinhibidores. 2012; 1:1 – 12.
33. Nápoles D. Tocolytics in preterm delivery: a current dilemma. *MEDISAN* 2013; 17(9): 5062.
34. Ulmsten U, Andersson K., Forman A: "Relaxing effects of nifedipine on the nonpregnant human uterus in vitro and in vivo" *Obstet Gynecol.* 52(4).
35. King J, Flenady V, Cole S, Thornton S. Cyclo-oxygenase (COX) inhibitors for treating preterm labour. *Cochrane Database Syst Rev* 2005; 2: CD001992.
36. Doyle L, Crowther C, Middleton P, Marret S, Rouse D. Magnesium sulphate for women at risk of preterm birth for neuroprotection of the fetus. *Cochrane Database Syst Rev* 2009; 1:CD004661.
37. Huaroto-Palomino K, Meza-Leon J, Pauca-Huamancha M, Polo-Alvarez M. Factores de riesgo maternos, obstétricos y fetales asociados al parto pretérmino, en el Hospital Regional de Ica, 2012. *Rev.méd.panacea* 2013; 3(2): 22-26

ANEXOS

1. Validación del *Cyperus Rotundus* (Piri Piri)



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la Inversión para el Desarrollo Rural y la Seguridad Alimentaria"

CONSTANCIA Nº 241-USM-2013

LA JEFA (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (Raíces), recibida de **Inés Andrea TORO ROLDÁN y Joselyn Consuelo HUAPAYA TICSE**; de la Facultad de Medicina de la Escuela Académico Profesional de Obstetricia de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; ha sido estudiada y clasificada como: ***Cyperus rotundus* L.**; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: LILIOPSIDA

SUB CLASE: COMNELINIDAE

ORDEN: CYPERALES

FAMILIA: CYPERACEAE

GENERO: Cyperus

ESPECIE: *Cyperus rotundus* L.

Nombre vulgar: "Piri Piri".

Determinado por: Blgo. Mario Benavente.

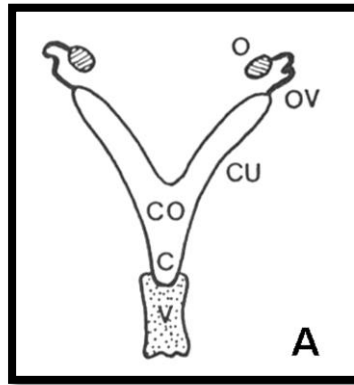
Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Fecha, 24 de septiembre de 2013



Dra. Betty Millán Salazar
JEEA (e)
DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

2. **Figura 1.** Anatomía del útero. Esquema representativo del útero bicorne de rata



O: ovario, OV: oviducto, CU: cuerno uterino,
CO: cuerpo, C: cuello, V: vagina.

3. **Figura 2.** Equipo de órgano aislado.

